LANG, K. & G. SIEBERT. 1954. *Die chemischen Leistungen der morphologischen Zellelemente.* In „Physiologische Chemie“ (B. FLASCHENTRÄGER & E. LEHNARTZ), II, 1064, Berlin, Göttingen und Heidelberg.

LEHMANN, F. E. & H. R. WAHLI. 1954. *Histochemische und elektronenmikroskopische Unterschiede im Cytoplasma der beiden Somatoblasten des Tubifexkeimes.* Z. Zellforsch. 39: 618.

RECKNAGEL, R. O. 1950. *Localisation of cytochrome oxidase on the mitochondria in the frog egg.* J. cell. and comp. Physiol. 35: 111.

SCHNEIDER, W. C. 1953. *Biochemical constitution of mammalian mitochondria.* J. Histochem. and Cytochem. 1: 212.

SPIEGELMAN, S. & H. B. STEINBACH. 1945. *Substrate-enzyme orientation during embryonic development.* Biol. Bull. 88: 254.

N° 14. **Th. Lender,** Strasbourg. — Mise en évidence et propriétés de l'organisine de la régénération des yeux chez la Planaire *Polycelis nigra.*

(Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale de la Faculté des Sciences de Strasbourg et du C.N.R.S., directeur M. Et. WOLFF).

Depuis les travaux de SANTOS (1929-1931), nous savons que des phénomènes d'induction interviennent dans la régénération du pharynx des planaires. Or l'étude des conditions de la régénération des yeux de la planaire *Polycelis nigra* a permis, à Et. Wolff et à moi-même, de mettre en évidence une autre activité inductrice (WOLFF et LENDER 1950). Nous avons montré, en effet, que le cerveau induisait à distance la régénération des yeux de *Polycelis nigra.* Les expériences faites pour préciser la nature de cette induction (LENDER 1952) ont suggéré l'hypothèse que le cerveau devait sécréter des substances chimiques, des organisines, capables de provoquer à distance la différenciation des ocelles. C'est la vérification de cette hypothèse qui m'a amené à faire les recherches suivantes.

1. Mise en évidence de l'organisine dans les broyats.

Chez *Polycelis nigra*, à la température de 18°, les yeux excisés se régénèrent vers le 7e jour. Cette régénération ne se fait pas en l'absence du cerveau. Si l'activité inductrice de cet organe est liée à une substance chimique, on peut penser retrouver cette substance dans des broyats de têtes de planaires. Le broyat est obtenu en hachant finement certaines régions du corps (région antérieure, région pharyngienne ou région postpharyngienne). 4 polycelis sont élevées dans 10 cm^3 d'eau en présence du broyat fait à partir de 10 à 14 planaires. On excise en même temps le cerveau et les 10 derniers yeux latéraux. On renouvelle le broyat tous les deux jours en même temps qu'on excise le blastème du cerveau en régénération. A la fin de l'expérience on contrôle sur les coupes histologiques l'absence de régénération du cerveau. Les planaires utilisées comme témoins sont opérées de la même manière, mais élevées à 4 dans 10 cm^3 d'eau en l'absence de broyats. Quand la régénération des yeux a été constatée, les coupes histologiques ont toujours montré la présence d'un cerveau ancien ou régénéré, d'au moins 100μ de long. Dans une première série expérimentale (Lender 1954*a*), on utilise un broyat de têtes. La régénération des yeux excisés débute entre le 7e et le 8e jour sous l'influence des broyats chez 27 individus sur 28 (93%).

Dans une deuxième série d'expériences, on utilise un broyat de régions pharyngiennes. Deux sur 17 planaires en expérience, c'est-à-dire 11%, régénèrent les yeux excisés dans le délai normal sous l'influence des broyats.

Enfin dans une troisième série expérimentale on utilise un broyat de régions caudales. Trois sur 29 des planaires, c'est-à-dire 10%, différencient des ocelles sous l'influence des broyats.

Nous avons donc la preuve que l'organisine de la régénération des yeux est une substance chimique présente dans les broyats. Tout le corps de la planaire la contient ; mais, dans les conditions normales, la concentration efficiente de la substance n'est atteinte que dans la région antérieure du corps, qui contient le cerveau.

2. L'organisine n'est pas nécessaire pendant toute la durée de la régénération des yeux.

Dans les expériences précédentes les planaires étaient en contact avec les broyats de têtes pendant toute la durée de la régénération des yeux. Mais celle-ci est peut-être encore possible, même si le temps de contact est plus bref.

On laisse les planaires, à cerveau et yeux latéraux excisés, en contact avec les broyats pendant les 4 premiers jours de l'expérience. Dix-huit planaires sur 23 (c'est-à-dire 78%) régénèrent les yeux, vers le 7e jour, sous l'influence de l'organisine des broyats. Si le contact est réduit aux deux premiers jours, 4 planaires sur 17 (c'est-à-dire 23%) régénèrent les yeux sous l'influence des broyats. Treize planaires sur 24 (c'est-à-dire 54%) différencient des ocelles si on laisse agir les broyats pendant le 3e et le 4e jour Lender 1954b).

Les organisines sont donc nécessaires pendant les 4 premiers jours de la régénération, mais les conditions optima sont réalisées vers le 3e et le 4e jour, sans doute au moment où les néoblastes, ayant colonisé le bord excisé, sont aptes à réagir à l'action inductrice.

L'expérience peut aussi être faite en ne laissant agir les broyats de têtes que pendant un jour sur deux. Dans une première série expérimentale, le broyat est ajouté au moment de l'excision du cerveau. Les planaires sont sous l'influence de l'organisine le 1er, 3e et 5e jour de la régénération des yeux. Seize individus sur 24 (c'est-à-dire 70%) régénèrent les ocelles. Dans ces expériences l'organisine peut sûrement pénétrer dans la planaire par la blessure.

Dans une deuxième série expérimentale, le broyat est ajouté le lendemain de l'excision du cerveau. Les planaires en expérience sont sous l'influence de l'organisine pendant le 2e, 4e et 6e jour de la régénération des yeux. Dix-huit individus sur 24 (c'est-à-dire 75%) régénèrent les ocelles. Dans ce cas la blessure est en général cicatrisée quand on ajoute le broyat. L'organisine doit donc aussi pénétrer dans le corps, soit par l'appareil digestif, soit directement par la peau.

Etudions maintenant les propriétés de l'organisine présente dans les broyats.

3. Influence de la chaleur sur l'organisine.

L'action de la chaleur sur l'organisine a été étudiée en élevant les *Polycelis*, après l'excision du cerveau et des yeux latéraux, en présence de broyats de têtes chauffés à 60° ou 100° pendant 2 minutes.

En présence des broyats chauffés à 60°, 23 individus sur 27 (85%) régénèrent les yeux sous l'influence de l'organisine, bien qu'on constate un léger retard dans l'apparition des ocelles (jusqu'à 3 jours). Les cellules des broyats ont été tuées sans que la substance inductrice soit devenue inactive. Si le broyat est chauffé à 100° pendant 2 minutes, 7 planaires seulement sur 23 (c'est-à-dire 26%) régénèrent les ocelles entre le 7e et le 8e jour sous l'influence de l'inducteur.

L'organisine semble donc présenter une certaine thermolabilité, le pouvoir inducteur devient très faible vers 100°.

4. Influence de l'alcool et de la dessiccation sur l'organisine.

On peut encore tuer les cellules des broyats de têtes avec de l'alcool à 70°. On laisse complètement évaporer le liquide. Les animaux en expérience, après l'excision du cerveau et des yeux latéraux, sont élevés en présence des broyats ainsi traités. Douze individus sur 20 (c'est-à-dire 60%) régénèrent les yeux entre le 7e et le 9e jour sous l'influence des broyats.

L'organisine n'est donc détruite ni par la dessiccation, ni par l'alcool à 70°.

5. La non-spécificité zoologique de l'organisine.

Les expériences de greffes (Lender 1952) avaient montré que le cerveau de *Dugesia lugubris* induisait aussi la régénération des yeux dans un implant de bord oculé de *Polycelis nigra*. L'organisine ne semblait donc pas posséder de spécificité zoologique. Ces expériences, difficiles par suite de l'absence de migration des cellules de régénération, ont été reprises en utilisant la méthode des broyats. J'ai contrôlé l'activité inductrice de broyats de têtes de *Dugesia lugubris*, *Dugesia gonocephala* et *Dendrocoelum lacteum*. Le pour-

centage de *Polycelis nigra*, ayant régénéré les yeux sous l'influence des broyats, a été le suivant:

15 individus sur 24 (62%), en présence de broyats de têtes de *Dugesia lugubris*;
18 individus sur 30 (60%), en présence de broyats de têtes de *Dugesia gonocephala*;
2 individus sur 16 (12%), en présence de broyats de têtes de *Dendrocoelum lacteum*.

Ces taux de régénération sont plus faibles que ceux obtenus avec des broyats de têtes de *Polycelis nigra*. Mais de ces expériences il ressort clairement que les têtes de ces trois espèces de planaires contiennent la substance inductrice des yeux. Les broyats de têtes de *Dendrocoelum lacteum* sont peu actifs. L'organisine n'a donc pas de spécificité zoologique et l'analogie avec les inducteurs du développement des batraciens est évidente.

6. La diffusion de l'organisine

Dans les expériences avec les broyats, les *Polycelis nigra* sont plus ou moins en contact avec les débris des planaires. Je n'ai jamais constaté que ces débris servaient de nourriture aux individus en expérience. Mais ces broyats fermentent assez facilement. Il a donc paru intéressant de voir si l'organisine diffuse dans l'eau d'élevage et si on peut la séparer des débris de planaires broyées.

En premier lieu j'ai élevé des *Polycelis nigra* sur une couche de gélose dans laquelle les broyats de têtes de *Polycelis* étaient enrobés. Dix sur 12 planaires en expérience ont régénéré normalement les yeux (83%). Les témoins ont montré que cette régénération n'était pas due à la présence de la gélose. Nous devons donc admettre que l'organisine de la régénération des yeux diffuse à travers une couche de gélose.

En deuxième lieu j'ai essayé de retrouver la substance inductrice dans l'eau baignant les broyats. Pour cela on fait des broyats au sable de têtes de *Polycelis*. Ces broyats dans l'eau sont conservés pendant 5 heures à la température de 2 à 7°. Puis on les centrifuge à 10.000 tours/minute pendant 20 minutes. Le liquide surnageant est utilisé pour l'élevage des *Polycelis* en expérience. Or, dans ce cas, 19 planaires sur 24 (c'est-à-dire 80%) régénèrent les yeux sous

l'influence de l'organisine. Ce pourcentage de régénération est voisin de celui obtenu dans les expériences précédentes avec les broyats de têtes, non centrifugés.

L'organisire a donc diffusé dans l'eau et nous la retrouvons dans le liquide débarrassé de tout débris de tissu.

Il est instructif de comparer ces propriétés de l'organisine de la régénération des yeux avec les propriétés des inducteurs du développement des batraciens. Dans les deux cas on constate une activité du tissu tué par la chaleur ou l'alcool et la non-spécificité zoologique de la ou des substances inductrices. Or dans le cas du développement embryonnaire des batraciens un tissu normalement inactif peut acquérir une activité inductrice sous l'influence de la chaleur. Il en est de même pour les broyats de queues de *Polycelis*.

7. L'organisine des broyats de queues.

Nous savons déjà que le pouvoir inducteur de la région caudale de *Polycelis nigra*, dans la régénération des yeux, est presque nul. Il en est de même pour la région caudale de *Dugesia gonocephala*. Chauffons maintenant à 60° et pendant 2 minutes l'eau contenant les broyats de queues de *Polycelis nigra*. Après refroidissement on y élève les planaires en expérience, après excision du cerveau et des yeux latéraux. On constate que 33 individus sur 52, c'est-à-dire 63% des planaires, régénèrent normalement les yeux sous l'influence des broyats de queues traités par la chaleur; tandis que dans les mêmes conditions, 3 individus sur 45, c'est-à-dire 7% des planaires, régénèrent les yeux sous l'influence des broyats de queues non traités par la chaleur. Le traitement par la chaleur a donc éveillé dans le tissu le pouvoir inducteur de la régénération des yeux.

Une explication définitive n'est pas encore possible. On peut penser à une substance inactive voisine de l'organisine et se trouvant dans les tissus de la queue. La chaleur activerait cette substance. Mais on peut aussi penser à l'hypothèse émise par Holtfreter (1934) et reprise par Toivonen (1940) à propos du développement des batraciens. On sait qu'un tissu, inactif à l'état frais, acquiert un pouvoir inducteur sous l'influence de la chaleur qui tue les cellules. Pour expliquer cette activité inductrice d'un tissu tué, ces auteurs admettent que la chaleur changerait la perméabilité sélective des cellules et permettrait ainsi une diffusion

de l'inducteur. En acceptant cette hypothèse il faudrait admettre que, chez *Polycelis nigra*, l'organisine serait présente dans tout le corps. Dans la région antérieure la substance inductrice circulerait librement ; dans la région caudale elle serait bloquée dans les cellules.

Conclusion.

L'existence de l'organisine de la régénération des yeux de la planaire *Polycelis nigra* semble donc être définitivement établie. C'est une substance chimique qui diffuse dans l'eau et à travers la gélose, qui est insensible à la dessiccation et à l'action de l'alcool à 70°. Elle n'a pas de spécificité zoologique et reste active après traitement par la chaleur. Elle est normalement présente dans la région antérieure du corps, la région cérébrale, où elle prend naissance. Dans cette région elle doit diffuser librement dans les tissus pour agir sur les néoblastes qui se trouvent dans la zone de régénération du bord oculé excisé. C'est entre le 3e et le 5e jour que l'activité inductrice passe par un maximum. La concentration de l'organisine ne variant pas au cours de la régénération expérimentale, on peut donc penser qu'à ce moment les néoblastes sont aptes à réagir à l'inducteur et à se différencier en organe visuel. Dans la région caudale, l'organisine peut être décelée si on tue les tissus en chauffant les broyats à 60°.

Les expériences, faites jusqu'à présent, ne permettent pas encore de se prononcer sur la nature chimique de l'organisine. Mais le fait d'obtenir la substance inductrice en solution ou en suspension dans l'eau permettra d'aborder ce problème capital.

BIBLIOGRAPHIE

Holtfreter, J. 1932. *Versuche zur Analyse der Induktionsmittel in der Embryonalentwicklung. Induktionsleistungen getrockneter, erhitzter und gefrorener Keimteile.* Naturw. 20: 973.

— 1934. *Der Einfluss thermischer, mechanischer und chemischer Eingriffe auf die Induzierfähigkeit von Tritonkeimteilen.* Roux. Arch. 132: 225-306.

Lender, Th. 1952. *Le rôle inducteur du cerveau dans la régénération des yeux d'une planaire d'eau douce.* Bull. Biol. Fr. Belg. 86: 140-215.

Lender, Th. 1954*a*. *Sur la régénération des yeux de la planaire Polycelis nigra en présence de broyats de la région antérieure du corps*. C.R. Ac. Sc., 238: 1742-1744.

— 1954*b*. *Sur l'activité inductrice de la région antérieure du corps dans la régénération des yeux de la planaire Polycelis nigra. Activité de broyats frais ou traités à la chaleur*. C.R. Soc. Biol. 148: 1859-1861.

Santos, F. V. 1929. *Studies on transplantation in Planaria*. Biol. Bull. Woods Hole. 57: 188-198.

— 1931. *Studies on transplantation in Planaria dorotocephala and Planaria maculata*. Phys. Zool. 4: 111-164.

Toivonen, S. 1940. *Über die Leistungsspezifität der abnormen Induktoren im Implantatversuch bei Triton*. Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A., 55 nº 6,: 1-150.

Wolff, Et. 1953. *Les phénomènes d'induction dans la régénération des planaires d'eau douce*. Rev. Suisse Zool. 60: 540-546.

— et Th. Lender. 1950. *Sur le rôle organisateur du cerveau dans la régénération des yeux chez une planaire d'eau douce*. C.R. Acad. Sc., 230: 2238-2239.

Nº 15. **Silvio Ranzi** et **Paolo Citterio,** Milano. — Le comportement des différentes fractions protéiques au cours du développement embryonnaire de *Rana esculenta*. (Avec 2 figures dans le texte.)

Laboratoire de Zoologie et Anatomie comparée de l'Université de Milan.

Dans le but d'approfondir la chimie de la différenciation pendant le développement embryonnaire et post-embryonnaire de *Rana esculenta* L., nous avons entrepris une série de recherches sur les changements et les propriétés des différentes fractions protéiques.

Nous avons extrait des œufs et des embryons lyophilisés dans du liquide de Weber et Edsall. Les œufs avaient été pondus d'une manière spontanée dans le laboratoire par des animaux qui avaient été pris dans des rizières des environs de Milan. Nous avons fractionné l'extrait en ajoutant une solution saturée de sulphate